

# **NOVA VIA DE BIOSÍNTESI DE LES HORMONES ESTEROIDES**

Comunicació presentada el dia 18 de març de 1965 pel doctor

**A. ORIOL i BOSCH**

Càtedra 1.<sup>a</sup> de Fisiologia (Prof. Dr. A. Gallego).  
Facultat de Medicina, Madrid

Durant els anys cinquantes, i potser a conseqüència de l'aplicació dels corticoides a la terapèutica clínica, es féu un gran avenç en el coneixement de la biosíntesi i el metabolisme de les hormones esteroides. Hom no pot considerar, però, que hagin estat resoltes totes les dificultats ni que ens trobem ara davant un capítol sabut de la biologia, ja que encara tenim moltes llacunes en el nostre coneixement.

Al Congrés internacional de Bioquímica de Moscou, SAMUELS<sup>1</sup> formulava dues qüestions a les quals ell no trobava resposta. La primera era de saber si la biosíntesi del colesterol en glàndules esteroidegèniques es feia seguint les mateixes petjades que en el fetge. El fet que diversos autors fracassessin en llur intent d'assolir la incorporació de l'àcid mevalònic utilitzant ovari, testicle o adrenal<sup>2, 3, 4</sup>, feia pensar que potser aquest compost-clau en el fetge no entrava dins la cadena de reaccions mitjançant les quals se sintetitzava el colesterol a les glàndules endocrines. Darrerament, però, hem vist que l'àcid mevalònic és incorporat almenys fins a esqualè pel testicle<sup>5</sup>, i fins a hormones corticoides per la suprarenal<sup>6</sup>. Aquesta pregunta, doncs, sembla avui quasi resolta, cosa que no s'esdevé amb la segona que ens feia el Prof. SAMUELS. Deia així: «¿És el colesterol un precursor obligatori de les hormones esteroides?»

Alguns autors han trobat repetidament que la quantitat de radiactivitat per unitat de massa incorporada al colesterol era menor que la incorporada a les hormones esteroides quan hom incuba o perfon teixit amb acetat-1-C<sup>14</sup><sup>7, 8, 9</sup>. Intentos d'explicar aquest fenomen a base de localitzar un *pool actiu* petit de colesterol han fracassat<sup>10, 11</sup>, així com els estudis cinètics<sup>11</sup>. Aquesta és, per tant, una pregunta oberta a l'investigador, i és sota aquest aspecte que avui ens interessem i fem una revisió\*, d'una línia de treball nova que pot contribuir a resoldre aquest problema i potser molts d'altres que encara no podem sospitar. Aquesta nova via de biosíntesi és la que en diríem dels «sulfoconjugats» i que potser passarà a la història amb els noms de LIEBERMAN i BAULIEU, que són els dos investigadors que més han contribuït a precisar-la.

\* Aquesta revisió acabà el desembre de l'any 1964. No és, ni pretén d'ésser exhaustiva, i només presenta els treballs que creiem més significatius.

Les formes conjugades de les hormones esteroides eren considerades com a metabolits finals o formes de desferra. Nosaltres, l'any 1961<sup>12</sup>, demostràrem que alguns d'aquests conjugats tenien accions diferents de les accions de les hormones lliures, i postulàvem que calia revisar la idea del conjugat com a metabolit final per donar-li un paper actiu en el metabolisme de l'organisme. L'any següent, BAULIEU<sup>13</sup> demostrà en una dona portadora d'un carcinoma adrenal, que aquest tumor sintetitza la dehidroepiandrosterona (DHEA), no pas en forma lliure, sinó com a sulfat (DHEA-S). Les concentracions de DHEA-S eren més altes a la sang perifèrica i, de més a més, no fou possible d'obtenir DHA lliure del teixit tumoral, un cop extirpat, ans tot estava en forma sulfatada. Per primera vegada un teixit endocrí, bé que tumoral, demostra posseir la capacitat de sintetitzar i segregar una hormona en forma conjugada. Fins aleshores, tan sols al fetge i en menor escala al ronyó era atribuïda aquesta funció, interpretada com a part de la seva activitat de «desintoxicació» de l'organisme.

El mes de gener de l'any següent<sup>14</sup>, WALLACE i LIEBERMAN publiquen un treball demostrant que homogenats d'un tumor adrenal tenen la capacitat de sulfoconjugar DHEA *in vitro*. Aquests autors diuen: «Encara que la significació fisiològica d'aquesta reacció no és coneguda, sembla improbable que la glàndula adrenal sintetitzi i segregui un sulfoconjugat perquè sigui immediatament eliminat per l'orina. Al contrari, sembla probable que la producció i la secreció de DHEA-S ha de tenir conseqüències fisiològiques significatives».

En el curs de l'any 1963 hi ha una sèrie de contribucions que confirmen les troballes de BAULIEU i de LIEBERMAN.

SNEDDON i MARRIAN<sup>15</sup> incuben teixit adrenal de bou amb estrona i poden aïllar l'estrone sulfatada com a producte de conversió metabòlica. COHN i el seu equip de Yale<sup>16</sup> incuben teixit tumoral adrenal íntegre i la fracció sobrenedant soluble de l'homogenat amb  $3\beta$ ,  $17\alpha$ -dihidroxi-5-prenyen-20 ona ( $17\text{-OH-prenyenolona}$ ) o DHEA, i són capaços d'aïllar del flascó d'incubació DHEA-S. L'australià ADAMS<sup>17</sup> estudia el comportament de la sulfoquinasa adrenal i demostra que pot utilitzar com a substractes substàncies esteroides amb hidroxils secundaris en posició  $3\alpha$ ,  $3\beta$  i  $17\beta$ , però, en canvi, no sulfoconjugua en posicions  $11\beta$ , ni els hidroxils dels carbons terciaris. Aquest autor planteja també la qüestió del significat biològic dels sulfoconjugats d'origen adrenal, i diu: «... poden ésser formes de transport, o potser, i gràcies a llur polaritat augmentada, poden fer un paper específic i fins ara desconegut en llur ma-

nera d'actuar». Aquesta línia de pensament segueix, doncs, la que nosaltres havíem postulat en el nostre treball <sup>12</sup>.

WIELAND i col·laboradors <sup>18</sup> aïllen un compost soluble a l'aigua, que identifiquen temptativament com a DHEA-S, de sang venosa adrenal i perifèrica. Com que la concentració de DHEA-S és més alta a la sortida de la glàndula que no a la resta del torrent circulatori, conclouen que és sintetitzada a la glàndula adrenal d'acord amb les troballes dels autors anteriors <sup>14, 15, 16 i 17</sup>.

L'equip de LIEBERMAN <sup>19</sup> publica un treball en el qual demostra que els sulfats poden servir de compostos intermediaris a la seqüència de biosíntesi. Aquests autors injecten a una dona, que és portadora d'un tumor adrenal que produeix una gran quantitat d'andrògens, sulfat de prenyenolona (5-prenen-3 $\beta$ -ol-20-ona), marcat amb S<sup>35</sup>. El 13 per cent del sofre radiactiu es recupera a l'orina del primer dia, del qual el 2,5 % es troba en el compost DHEA-S. El fet que el DHEA-S <sup>35</sup> sigui format de prenyenolona-S<sup>35</sup>, els autors creuen que és perquè el sulfoconjugat és metabolitzat com a tal —pèrdua de la cadena lateral—, i no degut a un procés de transsulfatació. I discuteixen detalladament la transcendència d'aquesta troballa que «força a reavaluar les capacitats metabòliques de les glàndules endocrines a fi de considerar el paper que puguin exercir els sulfoconjugats en la biosíntesi hormonal».

El dubte que quedava del treball anterior —que el procés sigui degut a una transsulfatació i no a una reacció metabòlica d'un sulfoconjugat— fou resolt en un treball de l'equip de BAULIEU <sup>20</sup>. Els parisencs injecten un sulfoconjugat que porta doble marcatge radioactiu: H<sup>3</sup>-5-androstene-3 $\beta$ , 17 $\beta$ -diol-3-sulfat-S<sup>35</sup> a dos individus normals, i aïllen de l'orina un metabolit sulfoconjugat que conté també tots dos isòtops: H<sup>3</sup>DHEA-S<sup>35</sup>-sulfat. Amb això es demostra el que LIEBERMAN imaginava: que un sulfoconjugat pot ésser metabolitzat sense pèrdua del radical sulfat.

CALVIN i LIEBERMAN <sup>21</sup>, són també capaços de comprovar aquest fet anterior. En un experiment *in vitro*, aquests autors incuben H<sup>3</sup>-prenyenolona-S<sup>35</sup>-sulfat amb homogenat de teixit adrenal humà hiperplàstic, troben que la major part del producte de conversió conté H<sup>3</sup> i S<sup>35</sup> en la mateixa proporció que el substracte. Aquest compost és identificat com a H<sup>3</sup>-17 $\alpha$ OH-prenyenolona-S<sup>35</sup>-sulfat.

Totes aquestes troballes tenen la glàndula adrenal com a protagonista i demostren que és capaç d'utilitzar sulfoconjugats per a produir i secretar DHEA-S. ¿Què passa amb aquesta substància quan surt al torrent circulatori? ¿Fa un paper més brillant que el d'ésser ràpidament excretada? SITTERI i McDONALD <sup>28</sup> observen que la unitat fetoplacentària és capaç



d'utilitzar DHEA-S per a sintetitzar estrògens. AAKVAAG, HAGEN i EIKNES<sup>23</sup> descriuen la capacitat del testicle i de l'ovari de gos per a utilitzar DHEA-S per a formar testosterona i androstendiona. DORFMAN<sup>24</sup>, a continuació, postula la possibilitat que l'adrenal, mitjançant el DHEA-S que segrega, proveeixi les altres glàndules esteroïdògeniques de substractes metabolitzables per a formar llurs productes hormonals finals.

No gaire temps després, l'equip de Nova York<sup>25 i 26</sup> publica uns treballs on demostra que el sulfat de colesterol pot ésser un precursor d'hormones esteroides. A una dona portadora d'un tumor adrenal inoperable, hom li injecta, per l'artèria esplènica esquerra, que és la que irriga el tumor, H<sup>3</sup>-colesterol-S<sup>35</sup>-sulfat. De l'orina aïllen DHEA-S que conté H<sup>3</sup> i S<sup>35</sup> en la mateixa proporció que la substància injectada. Els dits autors postulen l'existència d'una via biosintètica que porti de colesterol-sulfat fins a DHEA-S sense perdre el radical àcid. Sens dubte ja, existeix la possibilitat que la via de biosíntesi dels sulfoconjugats funcioni; però ¿és que el teixit esteroïdògenic està, en condicions fisiològiques o patològiques no experimentals, exposat a la presència de colesterol-sulfat o d'altres precursors sulfatats? La pregunta no tenia resposta fins que el mes de setembre de 1964 apareix un treball, també de l'equip de LIEBERMAN<sup>27</sup>, en què descriuen la presència a l'adrenal de vaca, de sulfat de colesterol. Aquest compost hi és present en concentracions de 1,5 µg/g. Aquesta troballa dóna una forta empenta als suggestius treballs anteriors que, malgrat tot, només parlaven de possibilitats. Ara: si es va confirmant la presència de sulfats «endògens» en teixits que han demostrat posseir la capacitat de metabolitzar-los, caldrà tenir present aquesta nova via de biosíntesi de les hormones esteroides a l'hora d'avaluar tant els processos de biosíntesi com llurs mecanismes reguladors. Ja ha començat l'estudi de la valoració de la via dels sulfoconjugats<sup>28</sup>, i nosaltres no tenim cap dubte que aviat s'incrementarà la seva repercussió en direcció a la biosíntesi dels gluco —i mineralocorticoides a través d'intermediaris, encara desconeguts, del tipus dels sulfoconjugats—  $\Delta^5$ - $\beta$ -ol equivalents al cortisol, a la corticosterona i a l'aldosterona. Ens sembla, de més a més, que el sulfat de colesterol podria representar aquell *pool actiu*, precursor de les hormones, que tantes vegades ha estat postulat i que donaria la resposta adequada a la segona pregunta que ens feia el professor SAMUELS.

#### BIBLIOGRAFIA

1. SAMUELS, L. T. — En «Biosynthesis of Lipids»; editor, G. Popják, Pergamon Press, 1963.
2. SAVARD, K., i GOLDWEIER, J. W. — «Fed. Proc.», 19: 169, 1960.
3. HALL, P. F. — Tesi Doctoral; Departament de Química Biològica, Universitat d'Utah, Salt Lake City, 1961.

4. BRYSON, M. J., i SWEAT, M. L. — «Arch. Biochem. Biophys.», 96: 1, 1962.
5. SALOKANGAS, R. A.; RILLING, H. C., i SAMUELS, L. T. — «Biochemistry», 3: 833, 1964.
6. BILLIAR, R. B.; ORIOI BOSCH, A., i EIK-NES, K. B. — «Biochemistry», 4: 457, 1965.
7. HECHTER, O.; SOLOMON, M. M.; ZAFFERONI, A., i PINGUS, G. — «Arch. Biochem. Biophys.», 46: 201, 1953.
8. ARMSTRONG, D. T.; O'BRIEN, J., i GREEP, R. O. — «Endocrinology», 75: 488, 1964.
9. BILLIAR, R. B.; ORIOI BOSCH, A. i EIK-NES, K. B. — «Biochemistry», 4: 1580, 1965.
10. MASON, N. R., i SAMUELS, L. T. — «Endocrinology», 68: 899, 1961.
11. ORIOI BOSCH, A., i ROMANOFF, E. B. — «Europ. J. Steroids», 1: 73, 1966.
12. ORIOI BOSCH, A., i VOIGT, K. D. — «Acta Endocrinologica», 38: 247, 1961.
13. BAULIEU, E. E. — «J. Clin. Endocr. Metab.», 22: 501, 1962.
14. WALLACE, E. Z., i LIEBERMAN, S. — «J. Clin. Endocr. Metab.», 23: 90, 1963.
15. SNEDDON, A., i MARRIAN, G. F. — «Biochem. J.», 86: 385, 1963.
16. COHN, G. L.; MURLOW, P. J. i DUNNE, V. C. — «J. Clin. Endocr. Metab.», 23: 671, 1963.
17. ADAMS, J. B. — «Biochim. Biophys. Acta», 71: 243, 1963.
18. WIELAND, R. G.; LEVY, R. P.; KATZ, D., i HIRSCHMANN, H. — «Biochim. Biophys. Acta», 78: 566, 1963.
19. CALVIS, H. I.; VANDE WIELWE, R. L., i LIESERMAN, S. — «Biochemistry», 2: 648, 1963.
20. BAULIEU, E. E.; CORPÉCHOT, C., i EMILIOZZI, R. — «Steroids», 2: 429, 1963.
21. CALVIN, H. I., i LIEBERMAN, S. — «Biochemistry», 3: 259, 1964.
22. SHTERL, P. K., i MACDONALD, P. C. — «Steroids», 2: 713, 1963.
23. AAKVAAG, A.; HAGEN, A. A., i EIK-NES, K. B. — «Biochim. Biophys. Acta», 86: 622, 1964.
24. DORFMAN, R. I. — Comunicació personal.
25. ROBERTS, K. D.; BANDI, L.; CALVIN, H. I.; DRUCKER, W. D., i LIEBERMAN, S. — «J. Am. Chem. Soc.», 86: 958, 1964.
26. ROBERTS, K. D.; BANDI, L.; CALVIN, H. I.; DRUCKER, W. D., i LIEBERMAN, S. — «Biochemistry», 3: 1963, 1964.
27. DRAYER, N. M.; ROBERTS, K. D.; BANDI, L., i LIEBERMAN, S. — «J. Biol. Chem.», 239, P. C. 3113, 1964.
28. LEBEAU, M. C.; ALBERGA, A., i BAULIEU, E. E. — «Biochem. Biophys. Res. Comm.», 17: 570, 1964.